"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و چهارم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.5.2

ایجاد کلکسیون هسته ژرم‌پلاسم جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) در بانک ژن گیاهی ملی ایران

Development of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm core collection in the National Plant Gene Bank of Iran

شکیبا شاهمرادی

چکیده

شاهمرادی ، ش. ۱۴۰۱. ایجاد کلکسیون هسته ژرم‌پلاسم جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) در بانک ژن گیاهی ملی ایـران. **نشـریه علـوم زراعـی ایـران. ۲۴ (۴):** ۴۰۶ -۳۹۰.

زیاد بودن تعداد و تنوع بالا در کلکسیون‌های منابع ژنتیکی، ارزیابی دقیـق و بهره‌بـرداری از آنهـا را بـا مشـکلات متعـددی مواجـه می‌سازد.کلکسیون هسته راه حل مناسبی برای مدیریت تعداد زیاد منابع ژنتیکی محسوب می‌شود. کلکسیون ژرم پلاسـم جـو زراعـی در بانک ژن گیاهی ملی ایران شامل حدود ۳۱۵۰ توده بومی ایران با تنوع ژنتیکی بالا است. تحقیق حاضر با هدف ایجـاد کلکسـیون هسـته ژرم‌پلاسم جو زراعی بومی ایران در پنج مرحله انجام شد. برای این منظور در سال‌های ۱۳۹۰ تـا ۱۳۹۸ نمونـه‌های جـو زراعـی بـومی ایران مورد ارزیابی قرار گرفته و سپس براساس صفات مورد ارزیابی و محل جمع آوری، نمونه‌های کلکسیون به گروه‌هایی با نمونه‌هـای مشابه تقسیم شدند. گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از روش سلسله مراتبی مبتنی بر مناطق محل جمع‌آوری نمونه‌ها و صفات مورفولوژیـک کیفی انجام شد. تنوع در سایر صفات مورفولوژیک نیز در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای مورد بررسی قـرار گرفـت. نتـایج نشـان داد که سطح حفظ تنوع آلل‌ها با طبقه‌بندی کلکسیون‌ها در گروه‌هایی با نمونه‌های نزدیک‌تر و انتخاب ۱۰ درصد از هر گـروه، افـزایش یافت. بر این اساس، کلکسیون هسته جو با ۳۳۳ نمونه انتخاب شد که بیش از ۱۰ درصد از نمونه‌های کلکسـیون اصـلی را در بـر داشـت. مقایسه مقادیر شاخص شانون نشان داد که کلکسیون هسته در اغلب صفات کیفی شاخص تنوع مشابه با کلکسیون اصلی را داشـت. تجزیـه تابع تشخیص و تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز نتایج مشابهی داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که اختصـاص صـحیح نمونـه‌هـا در ایجـاد کلکسیون هسته و کارآمدی آن در حفظ تنوع کلکسیون اصلی در یک کلکسیون کوچک‌تر و قابل دسترس‌تر، موثر بود.

واژه‌های کلیدی: تجزیه به مولفه‌های اصلی، تنوع ژنتیکی، جو زراعی، صفات مرفولوژیک و شاخص شانون

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴ این مقاله مستخرج از پروژه تحقیقاتی شماره ۹۶۰۶۷۶-۰۸۴-۰۳-۰۳-۲ مصوب سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی می‌باشد
استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(پست الکترونیک: shakibashahmoradi@gmail.com)

مقدمه

با توجه به زیاد بودن تنوع و تعداد منابع گیاهی ژنتیکی، محققان برای حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی چالش بزرگی را پیش رو دارند. پس از واگذاری مسئولیت برنامه‌ریزی برای حفظ منابع ژنتیکی گیاهی به سازمان خواربار جهانی (FAO) و تاسیس موسسه بین‌المللی ذخایر ژنتیکی گیاهی (IPGRI) و آغاز برنامه‌های ملی نگهداری منابع ژنتیکی گیاهی، چالش‌های مربوط به مدیریت، نگهداری و بهره‌برداری بهتر از کلکسیون‌ها، بویژه در منابع ژنتیکی بومی، ایجاد شده است (Hodgkin *et al.,* 1995). یکی از موانع بزرگ در راه موفقیت برنامه‌ها، رشد سریع تعداد نمونه‌ها در کلکسیون‌ها و بی‌نظمی ایجاد شده در آنها می‌باشد (Brown, 1995). با توجه به اینکه رشد یک کلکسیون ممکن است باعث محدود شدن استفاده از آن شود. پیشنهاد شده است که با ایجاد "کلکسیون هسته" می‌توان نسبت به کوچک‌تر کردن آن اقدام کرد (Frankel, 1984). با ایجاد کلکسیون هسته می‌توان با حداقل تعداد نمونه‌ها، تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی و اجداد آنها را معرفی کرد. با این کار سایر نمونه‌های کلکسیون حذف نشده و به‌عنوان کلکسیون ذخیره نگهداری خواهند شد. کلکسیون هسته شامل تعداد محدودی از نمونه‌های ژنتیکی است که از یک کلکسیون ژرم‌پلاسم انتخاب شده‌اند تا معرف تنوع ژنتیکی موجود در کل کلکسیون باشند. کلکسیون هسته باید تا حد ممکن دارای تنوع ژنتیکی باشد (Frankel and Brown, 1984; Brown, 1988a). نمونه‌های کلکسیون هسته در حقیقت نماینده محدوده اولیه طیف متنوع ژنتیکی و دامنه اکولوژیکی ژرم‌پلاسم بوده که هدف از انتخاب آنها حفظ بالاترین تنوع ژنتیکی است. بر این اساس کلکسیون هسته نباید حاوی نمونه‌های تکراری بوده و تشابه نمونه‌ها باید در حداقل مقدار باشد. برای این کار لازم است به جای آنکه از حدود نهایی اکوسیستم چند نمونه برداشت شود، در طول گرادیان اکولوژیکی در مقاطع مختلف نمونه‌برداری انجام شود تا حداکثر تنوع حفظ شود (Brown, 1995). کلکسیون هسته باعث ایجاد یک کلکسیون کاری مناسب برای تحقیقات فشرده روی آلل‌های مطلوب و ورود به کل کلکسیون ژرم‌پلاسم محسوب می‌شود (Holbrook and Anderson, 1995). برای مثال، تحقیق درباره صفات مطلوب و یا ژن‌های خاص از طریق ارزیابی کلکسیون هسته آغاز می‌شود. به‌نژادگران گیاهی پس از پیدا کردن صفات یا آلل‌های مطلوب با مراجعه به کلکسیون اصلی می‌توانند نمونه‌ها را بر اساس کلاسترهای مشابه و یا نواحی جغرافیایی مشابه مورد بررسی قرار دهند تا تنوع ژنتیکی بیشتری رابه برنامه‌های به‌نژادی خود وارد نمایند.

تاکنون کلکسیون‌های هسته برای گیاهان سویای چندساله (Brown *et al.,* 1987)، گونه‌های یک‌ساله و چندساله یونجه (Diwan *et al.,* 1994)، جو (Van Hintum *et al.*, 1990)، لوبیا (Tohme *et al.,* 1996)، عدس (Erskine and Muelbauer, 1991) و ذرت و بامیه (Mahajan *et al.*, 1996). ایجاد شده است. این کلکسیون‌ها براساس اطلاعات شناسنامه‌ای و توصیف‌گرها (Descriptors)، اطلاعات جغرافیایی، ویژگی‌های بیوشیمیایی، اطلاعات مولکولی، تنوع مورفولوژیکی براساس صفات کمی و کیفی، ساختار ژنتیکی و تجزیه پدیگری تعریف شده‌اند (Van Hintum and Halman, 1994).

از زمان پیشنهاد ایجاد کلکسیون هسته، شرایط و اصول انتخاب آن مورد ارزیابی قرار گرفته است (Brown, 1989a; Frankel and Brown, 1984). گزارش شده است که انتخاب تصادفی ۱۰ درصد از کل کلکسیون، برای حفظ تنوع آلل‌ها نسبتا کافی است و ۷۰ درصد از تنوع آلل‌ها حفظ می‌شود. با طبقه‌بندی کلکسیون‌ها در گروه‌هایی با نمونه‌های نزدیک‌تر و انتخاب ۱۰ درصد از هر گروه، سطح حفظ تنوع آلل‌ها افزایش یافت (Brown, 1989b). در مقابل در صورتی‌که یک کلکسیون هسته بخش قابل‌توجهی از طیف تنوع ژنتیکی مجموعه اصلی را شامل نباشد، موثر نخواهد بود

(Hodgkin *et al*., 1995). یک کلکسیون هسته باید واجد حداکثر تنوع ژنتیکی کل مجموعه با حداقل تکرار باشد. روش انتخاب چنین هسته‌ای به اطلاعات کلکسیون اصلی بستگی دارد. روش ایجاد کلکسیون هسته برای ارقام تجاری با توده‌های بومی جمع‌آوری شده از مزارع کشاورزان یا بازارهای محلی متفاوت است. ارقام تجاری معمولا صفات و پدیگری مشخص و شناخته شده‌ای دارند (Van Hintum and Haalman, 1994)، در حالیکه برای توده‌های بومی اطلاعات ژنتیکی اندکی در دست بوده و از سایر اطلاعات مانند اطلاعات جمع‌آوری استفاده می‌شود. فرآیند ایجاد کلکسیون هسته با نمونه برداری از منابع ژنتیکی با گروه‌بندی نمونه‌ها، به‌صورتی که داخل گروه‌ها یکنواختی (هموژنی) و بین گروه‌ها غیریکنواختی (هتروژنی) وجود داشته باشد، آغاز می‌شود. فرانکو و همکاران (Franco *et al*., 2002) روش MLM-WARD را که در آن از فاصله گوور (Gower, 1971) برای سنجش مقیاس تشابه یا فاصله در نمونه‌ها استفاده می‌شود، ارائه کردند. در این روش از متغیرهای پیوسته و رتبه بندی استفاده می‌شود. گروه‌های اولیه بر اساس روش وارد تعیین شده و سپس از روش MLM جهت ارتقای گروه‌ها استفاده می‌شود.

براون (Brown, 1989a) بر اساس مدل آلل خنثی پیشنهاد کرد که یک مجموعه هسته باید حاوی حدود ۱۰ درصد از کل مجموعه، با حداکثر ۳۰۰۰ مورد نمونه باشد. با این تعداد انتظار می‌رود که بیش از ۷۰ درصد از آلل های موجود در کل مجموعه در نمونه اصلی گنجانده شود (Brown, 1989b). با توجه به محدود بودن ظرفیت برنامه ارزیابی، اغلب تعداد نمونه‌هایی که می‌توان آنها را ارزیابی کرد، محدود هستند، برای انتخاب نمونه‌های مجموعه‌های هسته با هر تعداد، از روش خاصی استفاده می‌شود. برای انتخاب مجموعه‌های هسته چندین راهبرد پیشنهاد شده است (Brown, 1989b; Schoen and Brown (Erskine and Muehlbauer, 1991; 1994;). اساس این راهبردها این است که کل مجموعه به گروه‌هایی که از نظر ژنتیکی تا حد ممکن متمایز باشند، تقسیم شده و سپس از هر گروه نمونه‌برداری می‌شود. مشکلات مربوط به این روش‌ها شامل انتخاب: ۱- روش تقسیم مجموعه به گروه‌ها، ۲- تعداد گروه‌های لازم برای تمایز، ۳- روش تخصیص تعداد کل نمونه‌هایی که از هر گروه در مجموعه اصلی گنجانده می‌شوند و ۴- روش انتخاب نمونه‌ای از هر گروه که در مجموعه هسته قرار می‌گیرد، هستند.

در یک تحقیق با استفاده از مجموعه‌ای از توده‌های بومی جو چینی با داده‌های اطلاعاتی، طبقه‌بندی براساس مکان‌های جمع‌آوری با طبقه‌بندی براساس ویژگی‌های مورفولوژیک کمی مقایسه شد. روش‌های مختلف برای تخصیص نمونه‌ها به گروه‌ها براساس روش براون (Brown, 1989b)، یعنی راهبرد ثابت، متناسب و لگاریتمی نیز مقایسه شده و موفقیت نسبی راهبردهای مختلف با تکرار روش نمونه‌برداری به دفعات، با هر بار شمارش تعداد انواع ایزوزیمی در مجموعه‌های هسته، ارزیابی شد. نتایج نشان داد که راهبرد انتخاب براساس روش نسبی و لگاریتمی بهترین کارایی را در ایجاد کلکسیون هسته داشتند. ایجادکلکسیون هسته در بانک ژن گیاهی ملی ایران برای اولین بار در کلکسیون ژرم پلاسم نخود تیپ کابلی با ۱۶۱۴ نمونه انجام و کلکسیون هسته با ۱۰۵ نمونه نخود تیپ کابلی تشکیل داده شد. این تعداد قابلیت دسترسی و ارزیابی‌های دقیق و هدفمند را با اهداف خاص مقدور ساخته است (Pouresmaeil *et al*., 2010). کلکسیون هسته لوبیای بانک ژن گیاهی ملی ایران نیز در سال ۱۳۸۹ ایجاد شد (Vaezi *et al*., 2010). کلکسیون اصلی لوبیا مشتمل بر ۱۴۲۵ نمونه برمبنای منشا جغرافیایی و ۱۷ صفت کیفی با استفاده از روش وارد در هفت گروه طبقه‌بندی شدند. شاخص تنوع فنوتیپی شانون-ویور نیز نشان دهنده تشابه تنوع صفات در دو کلکسیون بود.

کلکسیون ژرم‌پلاسم جو زراعی (*Hordeum vulgare*) در بانک ژن گیاهی ملی ایران دارای تنوع

ژنتیکی بالایی است. حجم زیاد کلکسیون مانع از رسیدن به اهداف اصلی آن یعنی حفاظت و بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی آنها می‌باشد. این تحقیق با هدف ایجاد کلکسیون هسته در ژرم‌پلاسم جو زراعی بانک ژن گیاهی ملی ایران و ارزیابی ساختار تنوع ژنتیکی در کلکسیون هسته جو زراعی بومی ایران و مقایسه آن با کلکسیون اصلی از نظر حفظ تنوع ژنتیکی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

کلکسیون ژرم‌پلاسم جو زراعی بومی ایران در بانک ژن گیاهی ملی شامل ۳۱۵۰ نمونه بومی است. این نمونه‌ها در طی سال‌های ۱۳۶۳ تا ۱۳۹۰ از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شده‌اند. ارزیابی آگرومورفولوژیک این نمونه‌ها در مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر- کرج از سال ۱۳۹۰ تا۱۳۹۸ انجام شد (Shahmoradi *et al.*, 2018; Shamoradi, 2019, 2020). طرح‌های آزمایشی بدون تکرار و در قالب طرح حجیم شده (آگمنت) با شاهدهای به نسبت ۰/۱ (یک شاهد به ازای هر ۱۰ نمونه) اجرا شدند. ابعاد کرت‌ها شامل یک ردیف کاشت به طول یک متر بوده و مدیریت زراعی بر اساس عرف منطقه انجام شد. کاشت بذر در پاییز و به صورت دستی انجام شد.

صفات مورفولوژیک براساس دستورالعمل موسسه بین‌المللی ذخایر توارثی (IPGRI, 1994) برای همه نمونه‌ها ثبت شدند. اطلاعات مربوط به محل‌های جمع‌آوری نمونه‌های ژنتیکی در جدول یک ارائه شده است. اطلاعات مورفولوژیک براساس مقیاس طبقه‌بندی (صفات مربوط به رنگ دانه، رنگ ساقه، ...) و یا براساس واحد SI (روز تا گلدهی، روز تا رسیدگی، ارتفاع بوته و ...) ثبت شدند.

جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی محل‌های جمع‌آوری ژرم پلاسم جو زراعی بانک ژن گیاهی ملی ایران

Table 1. Geographical information of location of the collected barley germplasm in National Plant Gene Bank of Iran

منشاء Origin	Location of collection	محل جمع‌آوری	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	تعداد نمونه No. of accesions
Iran	Ardebil	اردبیل	38° 25′ N	48° 30′ E	14
Iran	West Azarbaijan	آذربایجان غربی	38° 3′ N	46° 17′ E	60
Iran	East Azarbaijan	آذربایجان شرقی	37° 31′ N	45° 2′ E	74
Iran	Kermanshah	کرمانشاه	34° 20′ N	46° 25′ E	64
Iran	Boshehr	بوشهر	28° 55′ N	50° 49′ E	247
Iran	Chaharmohale Bakhtiari	چهارمحال و بختیاری	32° 21′ N	50° 49′ E	41
Iran	Esfahan	اصفهان	32° 39′ N	51° 40′ E	24
Iran	Fars	فارس	29° 38′ N	52° 30′ E	81
Iran	Gilan	گیلان	37° 13′ N	49° 38′ E	4
Iran	Golestan	گلستان	36° 30′ N	53° 57′ E	31
Iran	Hamedan	همدان	34° 48′ N	48° 30′ E	75
Iran	Hormozgan	هرمزگان	27° 11′ N	56° 16′ E	13
Iran	Ilam	ایلام	33° 38′ N	46° 25′ E	9
Iran	Kerman	کرمان	31° 3′ N	57° 26′ E	62
Iran	Khorasan	خراسان	36° 18′ N	59° 36′ E	185
Iran	Khozestan	خوزستان	31° 31′ N	49° 52′ E	23
Iran	Kohkiloyeh Boyer Ahmad	کهگیلویه و بویراحمد	30° 39′ N	51° 36′ E	36
Iran	Kordestan	کردستان	35° 18′ N	47° 0′ E	57
Iran	Lorestan	لرستان	33° 9′ N	47° 43′ E	150
Iran	Markazi	مرکزی	34° 4′ N	49° 40′ E	159
Iran	Mazandaran	مازندران	36° 33′ N	53° 3′ E	74
Iran	Semnan	سمنان	35° 34′ N	53° 23′ E	17
Iran	Sistan Baluchestan	سیستان و بلوچستان	25° 26′ N	61° 10′ E	23
Iran	Tehran	تهران	35° 41′ N	51° 20′ E	9
Iran	Yazd	یزد	31° 53′ N	54° 21′ E	231
Iran	Zanjan	زنجان	36° 40′ N	48° 29′ E	119
Iran	Blank	نامشخص			268
	Grand total	جمع کل			

برای ایجاد کلکسیون هسته جو زراعی بومی ایران از روش ون‌هینتوم و همکاران (Van Hintum *et al.*, 2000) شامل پنج مرحله اصلی استفاده شد:

۱- ارزیابی مواد ژنتیکی (کلکسیون) و جمع‌بندی اطلاعات موجود و ارزیابی‌های انجام گرفته در نمونه‌های کلکسیون جو زراعی بومی ایران. برای این منظور اطلاعات آگرومورفولوژیک ۳۱۵۰ نمونه موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران از سال ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۸ و اطلاعات دقیق محل جمع‌آوری نمونه‌ها جمع‌بندی شد. با توجه به اینکه شرایط آزمایش مزرعه‌ای در سال‌های مختلف متفاوت بود، صفات کمی در سال‌های مختلف قابل مقایسه نبودند. اطلاعات قابل استفاده در آزمایش علاوه بر اطلاعات جغرافیایی، صفات کیفی (صفات دارای وراثت پذیری بالا شامل تعداد ردیف دانه‌ها، عادت رشد، رنگ قاعده ساقه، رنگ گوشوارک و رنگ لما بودند.

۲- تصمیم‌گیری در خصوص اندازه کلکسیون هسته. گزارش شده است که انتخاب تصادفی ۱۰ درصد از کل کلکسیون، برای حفظ تنوع آلل‌ها نسبتا کافی بوده و ۷۰ درصد از تنوع آلل‌ها حفظ می‌شود. البته از طریق طبقه‌بندی کلکسیون‌ها در گروه‌هایی با نمونه‌های نزدیک‌تر و انتخاب ۱۰ درصد از هر گروه، سطح حفظ تنوع آلل‌ها افزایش می‌یابد (Franco *et al.*, 2005; Hodgkin *et al.*, 1995). بر این اساس حدود ۱۰ درصد از کل نمونه‌های کلکسیون جو شامل حدود ۳۰۰ نمونه برای کلکسیون هسته در نظر گرفته شد.

۳- تقسیم بندی نمونه‌های ژرم پلاسم به گروه‌های خاص با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای. ایجاد کلکسیون هسته با نمونه‌برداری از منابع ژنتیکی با گروه‌بندی نمونه‌ها به شکلی که داخل گروه‌ها یکنواختی (هموژنی) و بین گروه‌ها غیریکنواختی (هتروژنی) وجود داشته باشد، آغاز شد. خوشه‌بندی یکی از مهم‌ترین روش‌های تجزیه و تحلیل داده‌ها است که در استخراج اطلاعات و دسته‌بندی مجموعه داده‌ها در گروه‌های مشابه مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای محاسبه فاصله بین هر جفت مشاهده از فاصله گوور که یکی از معدود معیارهایی است که توانایی مدیریت هر دو متغیر طبقه‌ای و پیوسته را داشته (Ben Ali and Massmoudi, 2013; Oppong, 2018) استفاده شد. در این روش به جای میانگین از میانه استفاده می‌شود (Gower, 1971, 1986). برای تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های کلکسیون از این روش استفاده شد. عدم تشابه بین دو متغیر، میانگین وزنی سهم هر متغیر است. این موضوع نشان می‌دهد که یک فرایند استاندارد سازی خاص برای هر متغیر اعمال می‌شود. فاصله گوور برای سنجش مقیاس تشابه یا فاصله در نمونه‌ها به‌کار رفت (Franco *et al.*, 2002) و با استفاده ازروش تجزیه خوشه‌ای K-Means براساس مقیاس فاصله‌ای گوور، گروه‌بندی نمونه‌ها انجام شد.

۳- تصمیم گیری در خصوص تعداد نمونه‌های انتخابی از هر گروه. ابتدا نمونه‌ها براساس اطلاعات جغرافیایی و صفات کیفی طبقه‌بندی شدند تا فرآیند نمونه برداری همپوشامی نداشته باشد. تعداد نمونه‌ها در زیرمجموعه هسته با استفاده از روش نسبی (انتخاب ۱۰ درصد از هر گروه) تعیین شد (Franco *et al.*, 2005). نمونه‌برداری با در نظر گرفتن تنوع مورفولوژیک در داخل گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای، انجام شد.

۵- انتخاب نمونه از هر گروه برای ورود به کلکسیون هسته. اقدام نهایی در ایجاد کلکسیون هسته، انتخاب نمونه‌های ورودی به کلکسیون هسته است. نمونه‌های منتخب باید بهترین نمونه‌ای باشند که نماینده گروه بوده و اهداف و عملکرد کلکسیون هسته را تامین کنند. تعداد نمونه‌های اختصاص یافته به کلکسیون هسته براساس روش نسبی (Brown, 1989b) تعیین شد که با اهمیت نسبی گیاه در هر گروه جغرافیایی که با میزان سطح زیر کشت آن مرتبط بود، تعدیل شد.

آماره‌های تنوع شامل میانگین، انحراف معیار و دامنه تغییرات محاسبه شدند. به‌منظور تعیین تنوع صفات

کیفـی، از شـاخص شـانون (H') (Shannon index) استفاده شد (رابطه ۱) (Shannon and Weaver, 1949).

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} P_i \ln(P_i) \Big/ \ln(S) \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

p_i: فراوانی نسبی هر گروه فنوتیپی در صفت مربوطه و s: تعداد گروه‌های فنوتیپی هر صفت می‌باشند. مقایسه صفات در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته پیشنهادی با استفاده از آزمون Mann-Whitney و Wilcoxon برای کلیه صفات انجام شد. به‌منظور مقایسه ضریب تغییرات در کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی و تعیین این که کلکسیون هسته تا چه اندازه نماینده مناسبی برای کلکسیون اصلی است، از شاخص نرخ تغییر ضریب تغییرات (Variable rate of CV; VR) استفاده شد (Dutta *et al.*, 2015).

$$VR(\%) = \frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m}\frac{CVc}{CVe}X100 \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

CVc: ضریب تغییرات کلکسیون هسته و CVe: ضریب تغییرات کلکسیون اصلی و m: تعداد صفات می‌باشند.

تجزیه واریانس صفات براساس مدل تجزیه واریانس یک طرفه با تکرار نامساوی با هدف مقایسه کلکسیون اصلی با کلکسیون هسته براساس روش Kruskal Wallis (Steel and Torrie, 1980) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام شد. تجزیه تابع تشخیص نیز انجام شد تا میزان تفاوت میان کلکسیون اصلی با کلکسیون هسته ارزیابی شود. جهت ارزیابی دقیق‌تر داده‌ها، تجزیه به مولفه‌های اصلی برای صفات کمی و کیفی انجام شد (Vasic *et al.*, 2008). تجزیه به مولفه‌های اصلی و رسم نمودار بای‌پلات با استفاده از نرم‌افزار STATGRAPHICS 2.1 انجام شد.

جدول ۲- کدبندی صفات گیاهی برای ارزیابی صفات جو (دستورالعمل موسسه بین‌المللی ذخایر توارثی)

Table 2. Coding for plant traits for evaluation of traits in barley (Guidelines of International Bioversity Institute)

Plant traits	صفات گیاهی	Coding کدبندی
Growth habit (GRH)	عادت رشدی	3. Erect افراشته 5. Intermediate حدواسط 7. Prostrate خوابیده
Stem pigmentation (STP)	رنگ قاعده ساقه	1. Green سبز 2. Purple (basal only) بنفش 3. Purple (half or more) نصف یا بیشتر بنفش 4. Dark purple بنفش تیره
Auricle pigmentation (AUP)	رنگ گوشوارک	1. Green سبز 2. Pale purple بنفش کم‌رنگ 3. Purple بنفش 4. Dark purple بنفش تیره
Lemma awn/hood (LAH)	ریشک لما	3. Short کوتاه 5. Intermediate حدواسط 7. Long بلند
Lemma awn barbs (LAB)	خارداری ریشک	3. Smooth صاف 5. Intermediate حدواسط 7. Rough زبر
Glume color (GLC)	رنگ گلوم	1. White سفید 2. Yellow زرد 3. Brown قهوه‌ای 4. Black سیاه
Lemma type (LET)	نوع لما	3. No lemma teeth بدون دندانه 5. Lemma teeth دانданه‌دار 7. lemma hair کرک‌دار
Awn color (AWC)	رنگ ریشک	1. Amber white کرم 2. Yellow زرد 3. Purple بنفش 4. Black سیاه 5. Other سایر
Lemma color (LEC)	رنگ لما	1. Amber کرم 2. Tan/red قرمز تیره 3. Purple بنفش 4. Black/grey سیاه/خاکستری 5. Other سایر
Grain (Pericap) color (GRC)	رنگ دانه (پریکارپ)	1. White سفید 2. Tan/red قرمز تیره 3. Purple بنفش 4. Black سیاه 5. Other سایر
Glume hairiness (GLH)	کرک‌دار بودن گلوم	1. No hair بدون کرک 2. Lemma hair کرک‌دار
Glume and awn length (GAL)	طول گلوم و ریشک	1. Shorter than kernel کوتاه‌تر از دانه 2. As kernel اندازه دانه 3. Longer than kernel بلندتر از دانه 4. Twice دوبرابر دانه
Grain row number (GRN)	تعداد ردیف دانه	2. Two rowed دوردیفه 4. Irregular نامنظم 6. Six rowed شش ردیفه

نتایج و بحث

فرآیند ایجاد کلکسیون هسته با گروه‌بندی نمونه‌ها به شکلی که داخل گروه‌ها یکنواختی (هموژنی) و بین گروه‌ها غیریکنواختی (هتروژنی) وجود داشته باشد، انجام شد. معیار مورد استفاده در گروه‌بندی نمونه شامل محل جمع‌آوری و پنج صفت کیفی رنگ گوشوارک، رنگ قاعده ساقه، عادت رشد، تعداد ردیف دانه و رنگ لما بودند. براساس روش تجزیه خوشه‌ای به روش Gower نمونه‌های جو زراعی بومی ایران گروه بندی شده و تعداد خوشه‌های جغرافیایی که دارای

یکنواختی در داخل نمونه‌های یک گروه و غیریکنواختی در بین گروه‌ها باشد، ۱۰ گروه تعیین شد. با استفاده از روش K-Means ویژگی گروه‌های تعریف شده بر اساس محل جمع‌آوری نمونه‌ها و پنج صفت کیفی در جدول ۳ ارائه شده است.

تعداد نمونه اختصاص یافته به هر یک از ۱۰ گروه تعیین شده بر اساس تجزیه خوشه‌ای و تعداد نمونه انتخابی از هر گروه در جدول ۴ نمایش داده شده است. تعداد نمونه‌های انتخابی در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد از نمونه‌های کلکسیون اصلی را شامل شد. تعداد نمونه‌های اختصاص یافته به کلکسیون هسته بر اساس روش نسبی (Brown, 1989b) تعیین شد که با اهمیت نسبی گیاه در هر گروه جغرافیایی که با میزان سطح زیر کشت آن مرتبط بود، تعدیل شد. نمونه‌برداری با در نظر گرفتن تنوع مورفولوژیک در داخل گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای انجام شد.

جدول ۳ – میانه صفات مورد استفاده در گروه‌بندی نمونه‌های کلکسیون ژرم‌پلاسم جو زراعی به روش تجزیه خوشه‌ای K-Means

Table 3. Mode of traits used for grouping of barley germplasm collection by K-Means cluster analysis method

		Cluster خوشه									
Plant traits	صفات گیاهی	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Area code	محل جمع‌آوری	90000	161010	110509	250000	140000	31200	190322	220100	60400	10000
Auricle pigmentation	رنگ گوشوارک	4	2	1	1	1	1	1	2	1	4
Stem pigmentation	رنگ ساقه	4	1	1	1	1	1	1	1	1	4
Growth habit	عادت رشد	3	7	7	3	3	7	5	7	5	3
Grain row number	تعداد ردیف دانه	2	6	6	2	2	6	2	6	6	2
Lemma color	رنگ لما	4	1	1	2	1	2	1	1	3	4

جدول ۴- تعداد نمونه‌های موجود در ۱۰ گروه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در کلکسیون اصلی و تعداد و درصد نمونه‌های اختصاص یافته به کلکسیون هسته ژرم‌پلاسم جو زراعی

Table 4. The number of samples in 10 groups resulting from cluster analysis in the main collection and the number and percentage of samples assigned to the core collection of barley germplasm

گروه Group	کلکسیون اصلی Main collection	کلکسیون هسته Core collection	درصد از کلکسیون اصلی Percentage of main collection
1	213	22	10.33
2	99	14	14.14
3	161	19	11.80
4	773	77	9.96
5	901	91	10.10
6	88	14	15.91
7	246	25	10.16
8	264	29	10.98
9	318	31	9.75
10	87	11	12.64
Tota l مجموع	3150	333	10.57

مقایسه تنوع فنوتیپی میان کلکسیون اصلی و زیرمجموعه هسته نشان داد که براساس شاخص شانون در صفات کیفی و ضریب تغییرات در صفات کمی که معیاری از تنوع موجود هستند، کلکسیون هسته تنوعی مشابه کلکسیون اصلی داشت (جدول ۵). این موضوع نشان می‌دهد که روش‌های نمونه‌برداری برای تهیه

کلکسیون هسته جو، کارآمد بوده است. در جدول ۵ مقادیر شاخص شانون محاسبه شده در کلکسیون هسته جو زراعی بومی ایران با کلکسیون اصلی مقایسه شده است. تنها صفات دارای وراثت پذیری بالا در این مقایسه مورد استفاده قرار گرفتند، زیرا آزمایشات ارزیابی از سال ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۸ انجام گرفته بود.

پارامترهای آماری برای صفات کیفی براساس کدبندی دستورالعمل موسسه ذخایر توارثی (جدول ۲) محاسبه شد. توزیع صفات مورفولوژیک و کمی در کلکسیون هسته نشان دهنده تنوع بالا در اغلب صفات گیاهی بود (جدول ۵). با مقایسه مقادیر شاخص تنوع شانون در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته می‌توان میزان تنوع صفات را در دو کلکسیون مقایسه نمود. مقدار شاخص شانون در صفات رنگ گوشوارک، رنگ ساقه، عادت رشدی، تعداد ردیف دانه، رنگ دانه، رنگ گلوم و نوع لما در کلکسیون هسته نسبت به کلکسیون اصلی کمی بالاتر بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تنوع این صفات در کلکسیون هسته بالا است. در هر مجموعه‌ای با حذف نمونه‌های مشابه و تکراری و در عین حال حفظ نمونه‌های دارای تنوع، به دلیل کاهش تعداد نمونه، شاخص تنوع افزایش می‌یابد. افزایش تنوع در کلکسیون هسته نسبت به کلکسیون اصلی، در سایر تحقیقات نیز گزارش شده است (Lasa *et al.*, 2001).

نتایج نشان داد که برای صفات رنگ ریشک، رنگ لما، نوع ریشک و تراکم سنبله مقادیر شاخص شانون در کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی تقریبا مشابه بود. این موضوع نشان می‌دهد که تنوع این صفات در کلکسیون هسته مشابه کلکسیون اصلی است. تنها برای صفات خارداری ریشک و کرک‌دار بودن گلوم، مقدار شاخص شانون و تنوع کمتری در کلکسیون هسته مشاهده شد. این موضوع غیرقابل اجتناب بوده و باعث از دست رفتن آلل‌های نادر در کلکسیون هسته می‌شود. این موضع توسط سایر محققان نیز در فرایند ایجاد کلکسیون هسته گزارش شده است (Lasa *et al.*, 2001). مقادیر مشابه شاخص شانون در دو ستون و مقادیر بالاتر این شاخص در کلکسیون هسته برای اغلب صفات نشان می‌دهد که کلکسیون هسته نماینده خوبی برای کلکسیون اصلی است. مقایسه ضریب تغییرات درکلکسیون هسته و کلکسیون اصلی با استفاده از شاخص نرخ تغییر ضریب تغییرات (VR%) برای صفات کمی نشان داد که ضریب تغییرات کلکسیون هسته نسبت به کلکسیون اصلی ۱۰۶/۵۲ درصد بود. این شاخص نشان می‌دهد که کلکسیون هسته تا چه اندازه نماینده مناسبی برای کلکسیون اصلی است (Dutta *et al.*, 2015). حدآستانه ۱۰۰ درصد در این شاخص برای صفات کمی شرط لازم در نظر گرفته شده و مقادیر بالاتر از آن نشان دهنده یک کلکسیون هسته مناسب است (Kaur *et al.*, 2022). این شاخص در صفات کیفی براساس شاخص شانون محاسبه شده و کلکسیون هسته ۹۴/۲ درصد از تنوع صفات کیفی در کلکسیون اصلی را حفظ کرد. حد آستانه ۸۰ درصد در این شاخص برای صفات کیفی شرط لازم در نظر گرفته شد (Kaur *et al.*, 2022).

تجزیه واریانس صفات کیفی بر اساس مدل تجزیه واریانس یک طرفه با تکرار نامساوی با هدف مقایسه کلکسیون اصلی با کلکسیون هسته بر اساس روش Kruskal Wallis (Steel and Torrie, 1980) انجام شد. این روش برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در صفات کمی و کیفی در سایر تحقیقات نیز مورد استفاده قرار گرفته است (Aghaei *et al.*, 2004). نتایج تجزیه واریانس یک طرفه با فرض کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته به عنوان تیمار و تعداد نمونه در هر کلکسیون به عنوان تکرار در مدل طرح کاملا تصادفی با تکرار نامساوی نشان داد که نمونه‌های کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته از نظر میانگین صفات کیفی در همه صفات، به‌جز تعداد.

جدول ۵- پارامترهای آمار توصیفی صفات کمی و کیفی گیاهی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته ژرم‌پلاسم جو زراعی

Table 5. Descriptive statistics parameters of quantitative and qualitative plant traits in the main collection and core collection of barley germplasm

		Main collection کلکسیون اصلی							Core collection کلکسیون هسته						
Plant traits	صفات گیاهی	N*	Min	Max	Mean/ Mode	Shanon Index	SD	CV	N*	Min	Max	Mean/Mode	Shanon Index	SD	CV
Area code	کد محل	314	1000	25000	158000	-	70499.6	44.6	33	1000	25000	155000	-	71996.8	46.4
DH	روز تا ظهور سنبله	229	136	183	158.09	-	7.549	4.78	23	141	183	158.43	-	7.72	4.87
DF	روز تا گلدهی	516	141	189	162.12	-	7.637	4.71	47	141	189	162.85	-	10.40	6.39
DM	روز تا رسیدگی	182	191	215	205.67	-	6.536	3.18	17	193	215	204.65	-	6.365	3.11
AUP	رنگ گوشوارک	315	1	4	1	0.35	0.683	-	33	1	4	1	0.41	0.768	-
STP	رنگ قاعده ساقه	315	1	4	1	0.36	0.723	-	33	1	4	1	0.38	0.812	-
PH(cm)	ارتفاع بوته	315	35	125	75.129	-	14.23	18.9	33	35	125	74.68	-	13.41	17.9
GRH	عادت رشدی	315	3	7	7	0.84	2.035	-	33	3	7	7	0.89	2.194	-
YLD	عملکرد دانه	311	2.41	1890	195.67	-	127.14	64.9	33	7.95	908.17	207.92	-	145.28	69.8
1000GW(g)	وزن هزار دانه	311	15	69	43.51	-	0.683	15.7	33	15	69	44.5	-	0.696	15.6
RN	تعداد ردیف دانه	314	2	6	6	0.59	1.885	-	33	2	6	6	0.64	1.975	-
SPL	طول سنبله	218	2.5	15.4	6.236	-	1.496	23.9	22	2.5	15.4	6.531	-	1.744	26.7
NSS	تعداد سنبلچه در سنبله	314	3.4	35.6	17.35	-	4.343	25.2	33	3.4	35.6	17.73	-	4.748	26.7
AWC	رنگ ریشک	229	1	5	2	0.37	0.55	-	23	1	5	2	0.36	0.629	-
LEC	رنگ لما	314	1	5	2	0.56	0.885	-	33	1	5	2	0.53	0.891	-
GRC	رنگ دانه	229	1	5	2	0.59	1.123	-	23	1	5	2	0.63	1.069	-
GLC	رنگ گلوم	229	1	4	2	0.62	0.651	-	23	1	4	2	0.64	0.713	-
LAB	خارداری ریشک	132	3	7	7	0.51	1.191	-	13	3	7	7	0.27	1.248	-
LH	کرک دار بودن لما	852	1	3	3	0.02	0.103	-	96	1	3	3	0.02	0	-
GLH	کرک‌دار بودن گلوم	852	1	4	1	0.56	1.232	-	96	1	4	1	0.54	1.199	-
GAL	طول گلوم و ریشک	852	1	4	1	0.87	0.872	-	96	1	4	1	0.90	0.943	-
LET	نوع لما	852	1	3	1	0.53	0.812	-	96	1	3	1	0.59	0.863	-
RHL	طول کرک راکیلا	852	1	2	1	0.88	0.904	-	96	1	2	1	0.91	0.926	-
SPD	تراکم سنبله	852	3	7	5	0.82	1.223	-	96	3	7	5	0.81	1.214	-

*Different data's for N were due to some traits were missing in a number of samples

* دلیل تفاوت در N ، از دست رفتن بعضی از صفات در تعدادی از نمونه‌ها بوده است

ردیف دانه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند کلکسیون هسته به‌طور معنی‌داری دارای تعداد جو دو ردیفه بیشتری بود که این موضوع افزایش میانگین طول سنبله را نیز به همراه دارد، زیرا طول سنبله در جوهای دو ردیفه بیشتر از جوهای شش ردیفه است . علت این موضوع تنوع بیشتر صفات در جوهای دو ردیفه است، بنابراین به‌منظور حفظ تنوع در کلکسیون هسته، تعداد این تیپ در کلکسیون هسته نسبت به کلکسیون اصلی بیشتر بود. سایر صفات کیفی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

آزمون کای- مربع برای تجزیه توزیع یکنواختی برای صفات مورفولوژیک کیفی بین کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته انجام شد (جدول ۶). این آزمون برای اغلب صفات کیفی مورد ارزیابی تفاوت معنی‌داری میان کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی نشان نداد. تنها دو صفت تعداد ردیف دانه و رنگ ریشک براساس این آزمون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشتند. صفت تعداد ردیف دانه براساس تجزیه واریانس یک طرفه صفات نیز تفاوت میان کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی را نشان داد.

مقایسه صفات کیفی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته پیشنهادی با استفاده از آزمون‌های Mann-Whitney و Wilcoxon انجام شد (جدول ۶). این آزمون نتایجی کاملا مشابه آزمون تجزیه واریانس یک طرفه داشت و نتایج این آزمون نشان داد که تنها در صفت تعداد ردیف دانه در سنبله میان کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی تفاوت وجود داشت.

تجزیه تابع تشخیص روی صفات کمی مورد ارزیابی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته (جدول ۹) تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از صفات نشان نداد. براساس این تجزیه صفت تعداد ردیف دانه در سنبله نیز در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته تفاوت معنی‌داری نداشتند.

به‌منظور بررسی ساختار تنوع ژنتیکی در بین نمونه‌های کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی، تجزیه به مولفه‌های اصلی برای صفات کمی و کیفی انجام شد. با اجرای تجزیه به مولفه‌های اصلی در صفات، چهار مولفه در تشکیل ماتریس ضرایب شرکت داشتند که در مجموع ۶۱/۷ درصد از واریانس صفات را توجیه کردند (اطلاعات نشان داده نشده است). سه مولفه اول در مجموع ۴۹/۹ درصد از تغییرات را به خود اختصاص دادند و به منظور بررسی دقیق‌تر روابط صفات و ژنوتیپ‌ها در این سه مولفه، دو نمودار دو بعدی مولفه اول و دوم و مولفه اول و سوم ارائه شدند (شکل‌های ۱-a و ۱-b). در این شکل‌ها ژنوتیپ‌های کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی با رنگ آبی و قرمز نشان داده شده‌اند. بر اساس تطابق نسبی پراکنش ژنوتیپ‌های کلکسیون هسته با کلکسیون اصلی می‌توان نتیجه گرفت که کلکسیون هسته ضمن کاهش تعداد ژنوتیپ‌ها و حفظ تنوع موجود در کلکسیون اصلی، نماینده قابل قبولی از آن بوده است.

نتیجه‌گیری

کلکسیون ژرم‌پلاسم جو زراعی (*Hordeum vulgare*) در بانک ژن گیاهی ملی ایران شامل حدود ۳۱۵۰ توده بومی ایران می‌شود که از زمان تاسیس بانک ژن (و حتی قبل ازآن) از نقاط مختلفی از سرتاسر کشور جمع‌آوری شده‌اند و دارای تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشند، اما حجم زیاد کلکسیون مانعی برای رسیدن به اهداف اصلی که برای آن به وجود آمده است، یعنی حفاظت و بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی آنها می‌باشد. در این تحقیق ایجاد کلکسیون هسته در ژرم‌پلاسم جو زراعی بانک ژن گیاهی ملی ایران، تعریف شد. راهبرد مورد استفاده برای نمونه‌برداری جهت ایجاد کلکسیون هسته از کلکسیون ژرم‌پلاسم جو زراعی بومی ایران، بر اساس ساختار سلسله مراتبی تعریف شده بر پایه

جدول ۶- مقایسه صفات کیفی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته پیشنهادی ژرم‌پلاسم جو زراعی

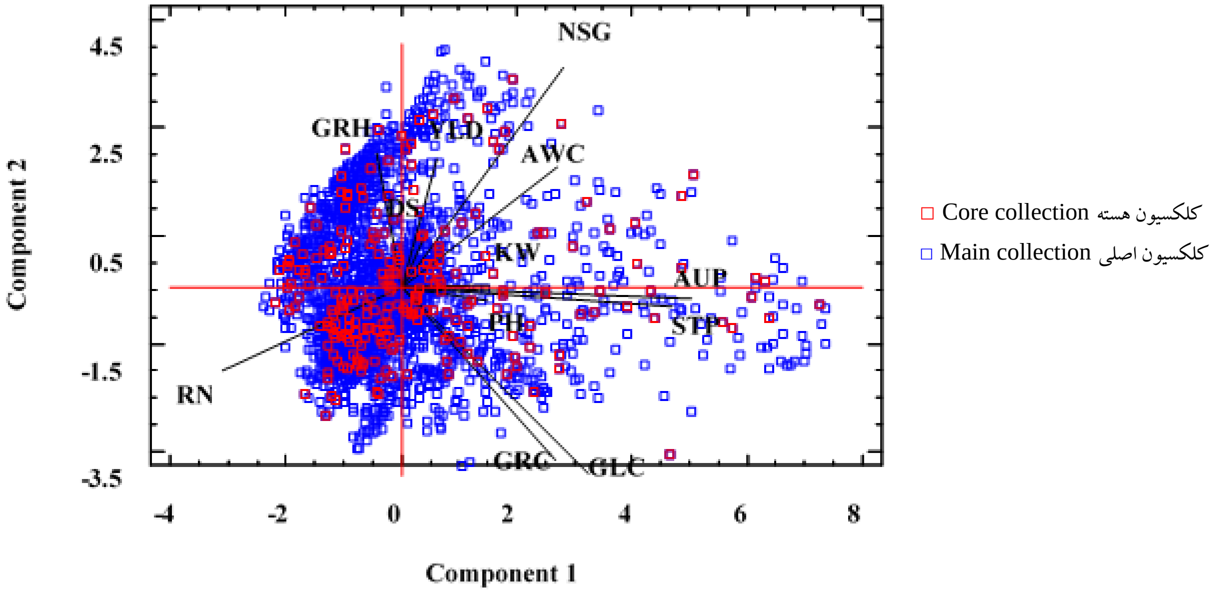
Table 6. Comparison of qualitative traits in the main collection and the proposed core collection of barley germplasm using Mann-Whitney and Wilcoxon tests

Test آزمون	محل جمع آوری Area code	تعداد ردیف دانه GRN	رنگ گوشوارک AUP	رنگ قاعده ساقه STP	رنگ ریشک AWC	رنگ لما LEC	رنگ دانه GRC	رنگ گلوم GLC	خارداری ریشک LAB	ریشک لما LAH	ریشک گلوم GLA	کرک‌دار بودن گلوم GLH	نوع لما Lemma type	طول کرک راکیلا RHL	تراکم سنبله SPD
Mann-Whitney U	5.12	4.711	5.041	5.097	2.580	5.054	2.625	2.540	8.658	4.061	4.043	3.996	3.829	3.985	3.877
Wilcoxon W	5.68	5.267	5.342	5.347	2.862	5.340	2.822	2.813	9.523	3.997	3.996	3.991	3.974	3.990	4.342
Z	-0.30	-3.27	-1.426	-0.82	-1.23	-0.792	-0.55	-1.570	-0.02	-0.33	-0.104	-0.315	-1.006	-0.369	-0844
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.76	0.001	0.154	0.411	0.217	0.429	0.581	0.116	0.977	0.736	0.917	0.753	0.315	0.712	0.399

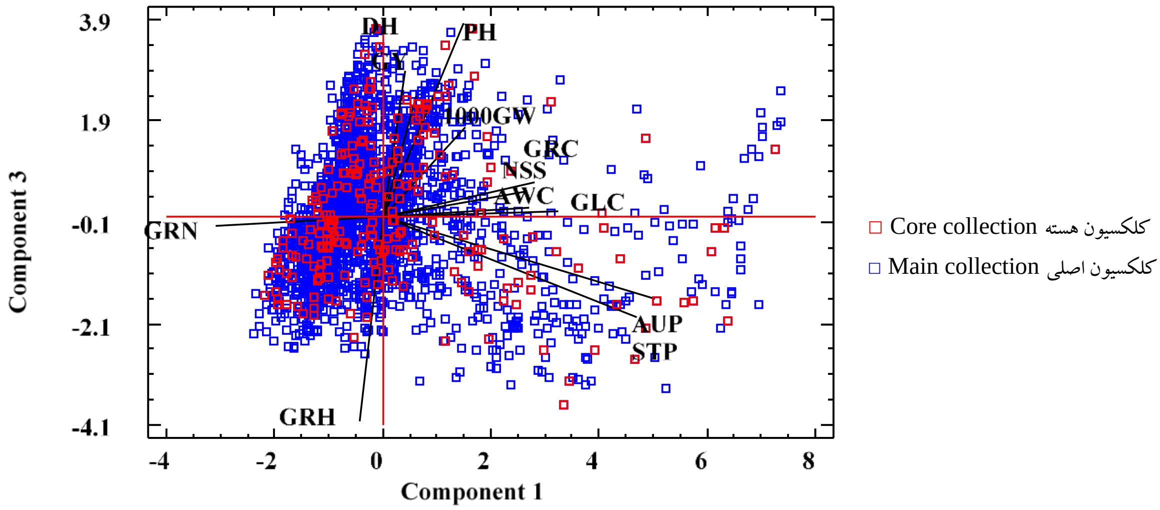
جدول ۷- تجزیه تابع تشخیص برای صفات کمی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته ژرم‌پلاسم جو زراعی

Table 7. Discrimination function analysis of quantitative traits between the main collection and core collection of barley germplasm

		Tests of equality of group means آزمون برابری میانگین گروه ها				
		Wilks' Lambda	F	df_1	df_1	Sig.
Area code	محل جمع‌آوری	0.931	0.295	1	4	0.616
Days to heading	روز تا ظهور سنبله	0.634	2.313	1	4	0.203
Days to flowering	روز تا گلدهی	0.621	2.445	1	4	0.193
Days to maturity	روز تا رسیدگی	0.960	0.167	1	4	0.704
Plant height	ارتفاع بوته	0.852	0.692	1	4	0.452
Grain yield	عملکرد دانه	0.878	0.558	1	4	0.497
1000 Grain weight	وزن هزار دانه	0.992	0.032	1	4	0.866
Grain row number	تعداد ردیف دانه	0.600	2.667	1	4	0.178
Spike lenght	طول سنبله	0.632	2.330	1	4	0.202
Spikelet/spike	تعداد سنبلچه در سنبله	0.655	2.103	1	4	0.221



a



b

شکل ۱- بای پلات دو مولفه اصلی اول و دوم (a) و اول و سوم (b) برای صفات مورد ارزیابی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته ژرم‌پلاسم جو زراعی

Fig. 1. Bi-plot of first two principal components for plant traits in main collection and core collection of barley germplasm

DS: تعداد روز تا ظهور سنبله، KW: وزن هزار دانه، GY: عملکرد دانه، STP: رنگ قاعده ساقه، AUP: رنگ گوشوارک، AWC: رنگ ریشک، GRH: عادت رشدی، RN: تعداد ردیف دانه، GLC: رنگ گلوم، GRC: رنگ دانه، PH: ارتفاع بوته، NSG: تعداد سنبلچه در سنبله

DS: Days to heading, KW: 1000 Kernel weight, GY: Grain Yield, STP: Stem pigmentation, AUP: Auricle pigmentation, AWC: Awn color, GRH: Grwoth habit, RN: Grain row number, GLC: Glum color, GRC: Grain color, PH: Plant hight, NSG: Number of Spikelet groups

محل‌های جمع‌آوری نمونه‌ها بود. تنوع مورفولوژیک در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. کلکسیون هسته منتخب شامل **۳۳۳** نمونه بود که بیش از ۱۰ درصد از تعدادکلکسیون اصلی را در بر داشته و براساس شاخص نرخ تغییر (VR) در صفات کمی و کیفی، مجموع کلکسیون هسته **۹۸/۷۹** از تنوع کلکسیون اصلی را داشت. این شاخص نشان می‌دهد که کلکسیون هسته نماینده مناسبی برای کلکسیون اصلی می‌باشد. سایر محققان نیز از بالا بودن این شاخص به عنوان معیاری برای تعیین کفایت و کارآمدی کلکسیون هسته تشکیل شده، استفاده نمودند (Dutta *et al.*, 2015; Kaur *et al.*, 2022). مقایسه مقادیر شاخص شانون در کلکسیون هسته با کلکسیون اصلی نشان داد که کلکسیون هسته در اغلب صفات کیفی شاخص تنوع بالاتری داشت. این موضوع اختصاص صحیح نمونه‌ها در ایجاد کلکسیون هسته و کارآمدی آن را در حفظ تنوع کلکسیون اصلی در یک کلکسیون کوچک‌تر و قابل دسترس‌تر، نشان می‌دهد. اعتبار راهبرد نمونه‌برداری برای انتخاب نمونه‌های کلکسیون هسته، یک کلکسیون هسته شامل ۱۰ درصد از کلکسیون بانک ژن، اغلب ۷۰ درصد از آلل‌های کلکسیون اصلی را در خود دارد (Brown, 1989b). فرآیند نمونه‌برداری بر اساس تئوری آلل‌های نشانگرهای طبیعی است و وارد کردن آلل‌های نادر در کلکسیون در نظر گرفته می‌شود. در یک کلکسیون هسته خوب از نمونه‌های تکراری اجتناب شده و درعین حال که به حد کافی بزرگ است، اما اندازه قابل مدیریت دارد.

مقایسه کلکسیون اصلی با کلکسیون هسته جو زراعی بومی ایران براساس تجزیه واریانس یک طرفه و همچنین آزمون Mann-Whitney و Wilcoxon نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان کلکسیون هسته و کلکسیون اصلی در دو صفت تعداد ردیف دانه و طول سنبله وجود داشت. کلکسیون هسته به طور معنی‌داری تعداد جو دو ردیفه بیشتری داشت که این موضوع افزایش میانگین طول سنبله را نیز به همراه دارد، زیرا طول سنبله در جوهای دو ردیفه بیشتر از جوهای شش ردیفه است. علت این موضوع تنوع بیشتر صفات در جوهای دوردیفه زراعی است، بنابراین به‌منظور حفظ تنوع در کلکسیون هسته، تعداد این تیپ در کلکسیون هسته نسبت به کلکسیون اصلی بیشتر بود. تنوع بالاتر جوهای دوردیفه در صفات رنگ گوشوارک و رنگ ریشک و رنگ ساقه در کلکسیون هسته اسپانیا نیز گزارش شده است (Lasa *et al.*, 2001). صفت رنگ‌دار بودن بیشتر در جوهای دوردیفه مشاهده شده است که توجیه آن وجود ژن رنگدانه و ژن عامل تعداد ردیف دانه روی بازوی کروموزوم ۲ می‌باشد. این موضوع تعداد بیشتر نمونه‌های جو دوردیفه در کلکسیون هسته را نسبت به کلکسیون اصلی توجیه می‌کند که به منظور حفظ تنوع کلکسیون اصلی در کلکسیون هسته، غیر قابل اجتناب بود. صفات کیفی نظیر رنگ گل برای ردیابی مسیر تکامل و همچنین ارزیابی ارتباط میان محیط و تنوع و تعیین حوض ژنی گیاه مهم می‌باشد (Van Hintum, 1994).

مقایسه مقادیر شاخص شانون در کلکسیون هسته با کلکسیون اصلی نشان داد که کلکسیون هسته در اغلب صفات کیفی شاخص تنوع مشابه کلکسیون اصلی داشت. این موضوع اختصاص صحیح نمونه‌ها در ایجاد کلکسیون هسته و کارآمدی آن را در حفظ تنوع کلکسیون اصلی در یک کلکسیون کوچک تر و قابل دسترس‌تر، نشان می‌دهد (Shahmoradi, 2020).

روش نمونه‌برداری صحیح برای کلکسیون هسته باعث حفظ حالات فنوتیپی ناشی از کمپلکس‌های ژنی سازگار شده می‌شود. کلکسیون هسته بخش عمده ارتباط فنوتیپی مشاهده شده در کلکسیون اصلی را در خود حفظ می‌کند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کمپلکس‌های ژنی سازگار شده کنترل‌کننده این روابط در جو، با نمونه برداری صحیح به کلکسیون هسته وارد

شده است، بنابراین کلکسیون هسته می‌تواند برای محققان و به نژادگران بسیار مفید باشد. بهره‌برداری از این روش در ایجاد کلکسیون هسته برای لاین‌های زراعی و کاهش تعداد و حجم کار با حذف لاین‌های مشابه، راهکار موثری برای ایجاد مجموعه‌های کوچک‌تر و قابل مدیریت می‌باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق، پروژه مصوب سازمان تحقیقات آموزش کشاورزی با شماره ۹۶۰۶۷۶-۰۸۴-۰۳-۰۳-۲ می‌باشد و در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر اجرا شده است، بدین‌وسیله از حامیان مالی و فنی این پروژه قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده References

Aghaei, M. J., M. R. Shahab, H. Zeinali and A. R. Taleei. 2004. Genetic diversity and geographical distribution in Iranian lentil accessions. Iran. J. Crop Sci. 6(4): 402-414. (In Persian with English abstract).

Ben Ali, B. and Y. Massmoudi. 2013. K-means clustering based on Gower similarity coefficient: A comparative study, 5th International Conference on Modeling, Simulation and Applied Optimization (ICMSAO), 28-30 April. Hammamet, Tunisia.

Brown, A. H. D. 1989a. The Case for Core Collections. p. 136-156. *In*: Brown, A.H.D., O.H. Frankel, R. Marshal and J.T. Williams (Eds.) The Use of Planf Genetic Resources. Cambridge Uniuersify Press, Cambridge, UK.

Brown, A. H. D. 1989b. Core ollections: a practical approach to genetic resources management. Genome, 31: 818-824.

Brown, A. H. D. 1995. The core collection at the crossroads. p. 3-19. *In*: Hodgkin, T., A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum and E.A.V. Morales (Eds.) Core Collections of Plant Genetic Resources. John Wiley and Sons, UK.

Brown, A. H. D. and D. J. Schoen. 1994. Optimal sampling strategies for core collections of plant genetic resources. p. 357-369. *In*: Loeschke, V., J. Tomiuk and S.K. Jain (Eds.) Conservation Genetics. Birkhäuser Verlag Basel, Switzerland.

Brown, A. H. D., J. P. Grace and S. S. Speer. 1987. Designation of a "core" collection of perennial *Glycine*. Soybean Genet. Newsl. 14: 59-70.

Diwan, N., G. R. Bauchan and M. S. McIntosh. 1994. A core collection for the United States annual *Medicago* germplasm collection. Crop Sci. 34: 279-285.

Dutta, M., B. S. P. Sandeep Kumar, N. Kumar, J. Kumari, A. C. Pandey, T. P. Singh, R. K. Tyagi, S. R. Jacob, K. Srinivasan, I. S. Bisht, M. Karale, M. Yadav, P. Sharma, G. Kumari, T. Aftab, Y. S. Rathi, A. K. Singh, S. Archak, K. V. Bhat, D. C. Bhandari, Y. P. S. Solanki, D.Singh, and K. C. Bansal. 2015. Development of Core Set of Wheat (*Triticum* spp.) Germplasm Conserved in the National Genebank in India. P. 33-46. *In*: Ogihara Y. *et al.*, (Eds.), Advances in Wheat Genetics: From Genome to Field, Springer, Tokyo Heidelberg New York Dordrecht London.

Erskine, W. and F. J. Muelbauer. 1991. Allozyme and morphological variability, out crossing rate and core collection formation in lentil germplasm. Theor. Appl. Genet. 83: 119-125.

Franco, J. and J. Crossa. 2002. The Modified location model for classifying genetic resources. I: Association between categorical and continuous variables. Crop Sci. 42: 1719-1726.

Franco, J., J. Crossa, S. Taba and H. Shands. 2005. A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. Crop Sci. 45: 1035-1044.

Frankel, O. H. and A. H. D. Brown. 1984. Plant Genetic Resources Today: a critical appraisal. p. 249-257. *In*: Holden, J.H.W. and J.T. Williams (Eds.) Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation, George Allen and Unwin, London. UK.

Frankel, O. H. 1984. Genetic Perspectives of Germplasm Conservation. p. 161-170. *In*: W. Arber, W., K. Llimensee, W.J. Peacock and P. Starlinger (Eds.) Genetic Manipulation: Impact on Man and Society. Cambridge University Press, Cambridge. UK.

Gower, J. C. 1971. A General coefficient of similarity and some of its properties. Biometrics, 27(4): 857–871.

Gower, J. C. 1986. Metric and Euclidean properties of dissimilarity coefficients. J. classific. 3: 5-48.

Hodgkin, T., A. H. D Brown, T. J. L. Hintum and E. A. V. Morales. 1995. Core collections of plant genetic resources. John Wiley and Sons, Chichester, UK.

Holbrook, C. C. and W. F. Anderson. 1995. Evaluation of a core collection to identify resistance to late leafspot in peanut. Crop Sci. 35: 1700-1702.

IPGRI, 1994. Descriptors for Barley (*Hordeum vulgare* L.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Kaur, V., J. Aravind, J. Manju, S. R. Jacob, J. Kumari, B. S. Panwar, N. Pal, J. C. Rana, A. Pandey and A. Kumar. 2022. Phenotypic characterization, genetic diversity assessment in 6,778 accessions of barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) germplasm conserved in National Gene bank of India and development of a core set. Front. Plant Sci. 13: 771920.

Lasa, J. M., E. Igartua, F. J. Ciudad, P. Codesal, E. V. Garcia, M. P. Gracia, B. Medina, I. Romagosa, J. L. Molina-Cano and J. L. Montoya. 2001. Morphological and agronomical diversity patterns in the Spanish barley core collection. Hereditas, 135: 217-225.

Mahajan, R. K., I. S. Bisht, R. C. Agrawal and R. S. Rana. 1996. Studies on south Asian okra collection: a methodology for establishing a representative core set using characterization data. Genet. Resour. Crop Evol. 43: 244-255.

Oppong, A. 2018. Clustering Mixed Data: An Extension of the Gower Coefficient with Weighted L2 Distance. Electronic Thesis and Dissertations. Paper 3463. https://dc.etsu.edu/etd/3463.

Pourasmaeil, M., Sh. Vaezi, E. Valiani and M. Jafar Aghaei. 2010. Investigating the diversity of morphological traits and identifying the relationships of these traits in the core collection of Kabuli Chickpea

in National Plant Gene Bank of Iran. Mod. Genet. J. 5(1): 89-99. (In Persian with English abstract).

Schoen, D. J. and A. H. D. Brown. 1994. Maximizing allelic diversity in core collections of wild crop relatives: the role of genetic markers. p. 55-77. *In*: Hodgkin, T., A.H.D. Brown, H.J.L. Van Hintum and E.A.V. Morales (Eds.) Core Collections of Planr Genetic Resources, Wiley and Sons, UK.

Shahmoradi, Sh., S. A. Tabatabaie and M. Pouresmaeil. 2018. Analysis and classification of salt tolerance in native barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm of Iran. Iran. J. Crop Sci. 19(4): 319-333. (In Persian with English abstract).

Shahmoradi, Sh. 2019. Regeneration and evaluation of genetic diversity in cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm collection of National Plant Gene Bank of Iran. Seed and Plant Improvement Institute Press.52494. (In Persian with English abstract).

Shahmoradi, Sh. 2020. Creation of a core collection of Iranian barley germplasm (*Hordeum vulgare* L.) in National Plant Gene Bank of Iran Seed and Plant Improvement Institute Press. 59730 .(In Persian with English abstract).

Shannon, C. E. and W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, IL, USA.

Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics, a Biometrical Approach. McGraw- Hill Book Co.

Tohme, J., D. O. Gonzalez, S. Beebe and M. C. Duque. 1996. AFLP analysis of gene pools of a wild bean core collection. Crop Sci. 36: 1375-1384.

Vaezi, Sh. and M. Modiri. 2010. Investigating the creation of bean germplasm core collection of National Plant Gene Bank of Iran and identifying the genetic diversity of proteins in it. Seed and Plant Improvement Institute Press. 38406. (In Persian with English abstract).

Van Hintum Th., R. von Bothmer, G. Fischbeck and H. Knuper. 1990. The establishment of the barley core collection. Barley Newsl. 34: 41-42.

Van Hintum Th. And D. Haalman. 1994. Pedigree analysis for composing a core collection of modern cultivars with examples from barley (*Hordeum vulgare* s. lat.). Theor. Appl. Genet. 88: 70-74.

Van Hintum, Th., A. H. D. Brown, C. Spillane and T. Hodgkin. 2000. Core collections of plant genetic resources. IPGRI Technical Bulletin No. 3. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Vasic, M., J. Gvozdanovic-Varga and J. Cervenski. 2008. Divergence in the dry bean collection by Principal Component Analysis (PCA). Genetica, 40: 23 -30.

Development of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm core collection in the National Plant Gene Bank of Iran

Shahmoradi. Sh.

ABSTRACT

Shahmoradi. Sh. 2022. Development of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm core collection in the National Plant Gene Bank of Iran**. Iranian Journal of Crop Sciences. 24(4): 390-406. (In Persian).**

The large number and high diversity of genetic resource collections usually affect the accuracy of assessment and exploitation of the potential of these resources. The core collection provides the solution for the challenges of genetic resources manegement. This study aimed to develop the core collection of native barley germplasm of Iran. The germplasm collection of barley germplasm (*Hordeum vulgare*) in the National Plant Gene Bank of Iran includes about 3150 native barley accessions with high genetic diversity. The core collection of barley germplasm was developed in five main steps. For this purpose, from 2011 to 2019, the traits of native barley accesions of Iran were evaluated. Then, by using the data of evaluated traits and collecting site, the collection accessions were grouped based on their similarityies. The strategy used for the grouping was evaluated based on a hierarchical structure defined based on the areas of collection and qualitative morphological traits. Variation in other morphological traits in different groups obtained from cluster analysis was also studied. By grouping similar accessions and selecting 10% of each group, the level of allele diversity increased in the core collection. The barley core collection was developed with 333 accessions which accouned for more than 10% of the main collection. A comparison of Shannon index values in the core collection with the main collection showed that the core collection had higher diversity for most of the qualitative traits of the index. The results demonstrated that the selection of right accessions for the core collection and its efficiency in preserving the diversity of the germplasm of main collection in a smaller and more accessible collection.

Key words: Barley, Genetic diversity, Morphological traits, Principle component analysis and Shannon index

Received: January, 2023 Accepted: March, 2023
Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (Email: shakibashahmoradi@gmail.com)